

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-319191
(43)Date of publication of application : 21.11.2000

(51)Int.Cl. A61K 35/78
A61P 15/10
A61P 43/00

(21)Application number : 11-135935

(71)Applicant : TAKEDA CHEM IND LTD

(22)Date of filing : 17.05.1999

(72)Inventor : OKUNO KENJI
TARUI NAOKI
AKIMOTO KOJI

(30)Priority

Priority number : 11059473 Priority date : 05.03.1999 Priority country : JP

(54) CYCLIC GMP SPECIFIC PHOSPHODIESTERASE INHIBITOR AND SEXUAL DYSFUNCTION-
IMPROVING DRUG

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a medicinal composition not causing a side effect, comprising a combination of several kinds of natural medications capable of chronically being used for a long term, and having reliable efficacy and useful cGMP-PDE inhibitory activity.

SOLUTION: This cGMP specific phosphodiesterase inhibitor is formulated with one or a combination of at least two selected from the group consisting of dry matter of leaves and stalks of plants belonging to the genus Epimedium, Acanthopanax sitchensis (Rupr. et Maxim.) Harms, Scutellariae Radix, Phellodendri Cortex, phocae thstis et penis, seahorse, guarana, Glycyrrhiza glabra L.var.glandulifera Regel et Herder, seeds of Juglans regia L.var. sinensis DC., cynomorii herba, Gardeniae Fructus, syakanzou, Torilis japonica DC., lingustri fructus [L], vagina ovorum mantidis, Panacis Japonici Rhizome, Anemarrhenae Rhizoma, Angelica pubescens forma biserrata SHAN et YUAN, leaves of Eucommia ulmoides Oliver, pseudocarps of Rubus coreanus Miq., psoraleae semen, Amomi Amari Fructus, Ephedrae Herba, Asiasari Radix, nardostachyos rhizoma, perilla herb, Cinnamomi Cortex (cassia bark), leaves of Artemisia princeps Pamp., Magnoliae Cortex, Magnoliae officinalis Rehd. et Wils., dry matter of entire plant of Bupleurum chinense, Phylllostachys nigra Munro var.henonis Stapf.ex Rendle, Cyperi Rhizoma, Evodiae Fructus, Coptidis Rhizoma and Aurantii Immaturi Fructus.

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公報番号

特開2000-319191

(P2000-319191A)

(43)公開日 平成12年11月21日 (2000.11.21)

(51)Int.Cl.⁷

A 61 K 35/78
A 61 P 15/10
43/00

並別記号

F I

A 61 K 35/78
31/00

テーコー⁷ (参考)

W 4 C 0 8 8
6 1 5 G
6 4 3 D

審査請求 未請求 請求項の数 6 O.L. (全 12 頁)

(21)出願番号 特願平11-135935

(22)出願日 平成11年5月17日 (1999.5.17)

(31)優先権主張番号 特願平11-59473

(32)優先日 平成11年3月5日 (1999.3.5)

(33)優先権主張団 日本 (JP)

(71)出願人 000002934

武田薬品工業株式会社
大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

(72)発明者 奥野 遼治

大阪府池田市五月丘5丁目1番3号

(72)発明者 横井 直樹

奈良県奈良市三穂1丁目6番1号

(72)発明者 秋元 浩二

東京都世田谷区深沢8丁目6番4号

(74)代理人 100062144

弁理士 青山 葉 (外4名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 サイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤および性的機能障害改善薬

(57)【要約】

【課題】副作用のない、穩やかで長期適用が可能な数種類の生葉の組み合わせからなる、確実な効果を有する有用なcGMP-PDE阻害活性を有する医薬組成物の提供。

【解決手段】インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャシヨウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイケジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカンゾウ、ジョティシ、ソウヒヨウショウ、チケツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウ、フクボンシ、ヤクチニン、マオウ、サイシン、カンショウキヨウ、ソヨウ、ケイヒ、ガイヨウ、コウボク、チクヨウ、チクジョ、コウブン、ゴシユ、オウレンおよびキヅツの一つまたは二つ以上の組み合わせを配合してなるサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシン、シャカンゾウ、ジョテイシ、ソウヒヨウショウ、チケセツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウ、フクボンシ、ヤクチニン、マオウ、サイシン、カンショウキヨウ、ソヨウ、ケイヒ、ガイヨウ、コウボク、チクヨウ、チクヨウ、コウブシ、ゴシュコ、オウレンおよびキジツの一つまたは二つ以上の組み合わせを配合してなるサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤。

【請求項2】インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシン、シャカンゾウ、ジョテイシ、ソウヒヨウショウ、チケセツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウ、フクボンシおよびヤクチニンの一つまたは二つ以上の組み合わせを配合してなるサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤。

【請求項3】請求項1又は2に記載のサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤を含有する医薬組成物。

【請求項4】請求項1又は2に記載のサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤を含有する性的機能障害改善用組成物。

【請求項5】経口用である請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項6】経口用である請求項4に記載の性的機能障害改善用組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、サイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ(cGMP-PDE)に起因する種々の機能障害や疾患症状を改善する生薬配合組成物に関する。特に、陰茎海綿体動脈中に特異的に存在するサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ(cGMP-PDE)を阻害することで、海綿体動脈を弛緩させ、老化やストレス、糖尿病など種々の病気による機能的異常により引き起こされた機能性障害の改善に有用な生薬配合医薬組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】サイクリックグアノシン3',5'-リリン酸(cGMP)は、生体内において細胞内情報伝達機構の2次伝達物質として重要な役割を果たしており、種々の細胞における機能発現の調節に関与している。cGMP-PDEの阻害剤は、細胞内のcGMP濃度を上昇させると考えられ、cGMP濃度の上昇は、平滑筋の弛緩、平滑筋細胞の増殖阻害、血管の内皮細胞への粘着阻害、血小板凝集阻害、感覺細胞におけるcGMP特異的イオンチャネルによるカリウムイオンおよびカルシウムイオンの流量の増加、上皮

細胞におけるナトリウムイオン流出促進とそれに伴う利尿作用と腎臓におけるナトリウムの排出促進、胃腸管における液体および電解質の流出などをもたらすことが知られている。また、cGMPは、心筋細胞においては、カリウムイオンおよびカルシウムイオンの流入の調節にも関与していると考えられている。したがって、cGMP-PDEの阻害剤は、狭心症、高血圧、心筋梗塞、動脈硬化などの循環器系疾患や、喘息や気管支炎などの閉塞性肺疾患、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、じんましんなどのアレルギー性疾患、過敏性腸症候群などの消化管の運動性に特徴づけられる疾患、線内障、勃起機能不全、雌性機能不全等の性的機能障害の予防および治療などに用いることができる。また、内皮由来弛緩因子(EDRF)、ニトロ系血管拡張薬、心房性ナトリウム利尿ペプチドの効果に対する増強作用も期待できる。これまでにcGMP-PDE阻害剤としては、ザブリナスト(Zaprinast)、E-4021、シルデナフィル(Sildenafil)などの縮合ビリミジン誘導体およびその類縁化合物が報告されている。(E.Sybertz and M.Czarniecki, Expert Opinion on Therapeutic Patents, 7, 631-639 (1997); M.Czarniecki, et al., Annual Reports in Medicinal Chemistry, 31, 61-70 (1996);特開平10-120681号公報など)。

【0003】また、従来より、伝統的漢方処方などのような数種類の生薬を配合した医薬組成物により、様々な理由による勃起不全障害や性欲減退、性的不感症など性的機能障害の治療が試みられてきた。また、これらの処方は、単に性的障害の治療などとまらず、易疲労感、食欲不振、下痢などの消化機能障害、冷え症、排尿障害、不正性器出血など、老化や極度の疲労時、虚脱体质などに伴う様々な障害の治療も目的としてきた。これらの漢方処方を含む生薬製剤は、化学薬品に見られるような副作用がほとんどなく、穏やかで持続的な効果をもたらすが、作用機序が明確でなく、また、確実な効果をもたらすわけではなく。

【0004】
【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、副作用のない、穏やかで長期服用が可能な数種類の生薬の組み合わせからなる、確実な効果を有する有用なcGMP-PDE阻害活性を有する医薬組成物を提供することにある。

40 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者は、インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシン、シャカンゾウ、ジョテイシ、ソウヒヨウショウ、チケセツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウ、フクボンシ、ヤクチニン、マオウ、サイシン、カンショウキヨウ、ソヨウ、ケイヒ、ガイヨウ、コウボク、チクヨウ、チクヨウ、コウブシ、ゴシュコ、オウレンおよびキジツに強いcGMP-PDE阻害活性を見出し、この知見に基づいて本発明を完成するに至

った。

【0006】すなわち、本発明は、

(1) インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカソウ、ジョティシ、ソウヒヨウショウウ、チクセツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウウ、フクボンシ、ヤクチニン、マオウ、サインシ、カンショウキョウウ、ヨウウ、ケイヒ、ガイヨウ、コウボク、チクヨウ、チクジョ、コウブシ、ゴシュユ、オウレンおよびキジツの一つまたは二つ以上の組み合わせを配合してなるサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤；

(2) インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカソウ、ジョティシ、ソウヒヨウショウウ、チクセツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウウ、フクボンシおよびヤクチニンの一つまたは二つ以上の組み合わせを配合してなるサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤；

(3) 前記(1)又は(2)に記載のサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤を含有する医薬組成物；

(4) 前記(1)又は(2)に記載のサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤を含有する性的機能障害改善用組成物；

(5) 経口用である前記(3)に記載の医薬組成物；

(6) 経口用である前記(4)に記載の性的機能障害改善用組成物；に関するものである。

【0007】本発明の生薬としては、インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカソウ、ジョティシ、ソウヒヨウショウウ、チクセツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウウ、フクボンシおよびヤクチニンのグループ、若しくはこれらのグループに更にマオウ、サインシ、カンショウキョウウ、ヨウウ、ケイヒ、ガイヨウ、コウボク、チクヨウ、チクジョ、コウブシ、ゴシュユ、オウレンおよびキジツを加えたグループの中から選ばれた一つまたは二つ以上組み合わせの生薬が挙げられる。ここで、上記コウボクには、ワコウボクおよびカラコウボクのいずれも含まれる。また、ケイヒには、いわゆるケイシも含まれる。

【0008】上記グループのうち、より好ましい成分としてはインヨウカク、ジャショウシ、ホコツシ、カイクジン、カイバ、サヨウ、ソウヒヨウショウウ、フクボンシ、ケイヒ、ガイヨウ、コウブシ、ゴシュユおよびオウレンが挙げられる。これらもまた同様に、一つまたは二つ以上の組み合わせで用いることができる。

【0009】後述する試験例の結果から明らかなとおり

本発明の生薬はいずれもcGMP-PDE阻害活性を示すものであるが、これらは、古来単味又は漢方方剤として薬用されてきたものであり、それぞれ慣用された方法にしたがって得られる生薬末又は抽出成分をそのまま用いることができる。生薬末又は抽出成分の形態も、通常の市販品又はその加工品を使用することができる。生薬末としては、例えば、乾燥刻み加工品を更に細かく粉碎した粉末状(微粉末状)の乾燥品として使用してもよい。また、本発明の生薬からの抽出成分の形態は特に制限されるものではなく、例えば乾燥エキス、エキス末、軟エキス、流エキス、エタノール又はエタノールと水を含むチキンエキス等の形態でも使用できる。好ましい本発明の生薬には、製剤化の自由度の高い抽出成分、例え乾燥エキス末などが含まれる。

【0010】抽出は、慣用の方法、例えば、抽出溶媒により前記生薬から活性成分を抽出することにより行うことができる。抽出溶媒としては、例えば水、親水性溶媒又はこれらの混合物を使用する場合が多い。前記親水性溶媒には、例えばメタノール、エタノール、プロパンオル、イソブロパノール、ブタノール、イソブタノール、ジブタノール、t-ブタノール等のアルコール類；メチルセロソルブ、エチルセロソルブなどのセロソルブ類；アセトンなどのケトン類；ジオキサン、テトラヒドロフランなどのエーテル類；ビリジン、モルヒン、アセトニトリル、N,N-ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチルピロドリンなどの窒素系溶媒などが挙げられる。これらの親水性溶媒は、単独又は2種以上の混合溶媒として使用してもよい。

【0011】特に、cGMP-PDEに対して高い阻害作用を有する成分を効率よく抽出するためには、例えば、①メタノール、エタノールなどの炭素数1～3程度の水溶性アルコール(特にエタノール)または②これらのアルコール(特にエタノール)と水との混合溶液を抽出溶媒として用いるのが有用である。水と親水性溶媒との混合溶媒を前記抽出溶媒として使用する場合は、水と親水性溶媒との割合は、広い範囲、例えば、水/親水性溶媒=95/5～5/95(重量比)程度の範囲から適当に選択できる。好ましい割合は、例えば、水/親水性溶媒=90/10～50/50(重量比)、特に85/15～60/40(重量比)程度である。このような溶媒は、本発明の生薬に対して1～100重量部を抽出に使用する。好ましくは5～50重量部、更に好ましくは、5～20重量部である。

【0012】抽出操作は、適当な温度、例えば、10℃～溶媒の還温温度、好ましくは15～70℃程度で行うことが出来、室温で冷浸抽出することもできる。抽出時間は、加热抽出の場合、30分間以上、好ましくは30分間～2時間、更に好ましくは1～2時間である。また、冷浸抽出の場合、3日間以上、好ましくは3～30日間、更に好ましくは5～14日間である。

【0013】抽出溶媒により抽出された抽出液は、その

また使用してもよく、水などで希釈してもよく、抽出したエキスを濃縮した濃縮エキスとしても使用できる。通常、抽出液を濃縮した濃縮エキス、抽出物に必要により添加剤を添加して、スプレードライ、凍結乾燥などの方法により粉末化した乾燥エキスとして使用する場合が多い。

【0014】本発明の生薬の使用量は、cGMP-PDEに対する阻害活性が発現する有効量であればよく、剤形、投与経路、年齢、性的機能障害の程度や種類などにより異なるが、例えば、投与単位あたりおよび成人1日あたり、乾燥エキス換算で、0.1～5,000mg、好ましくは1～2,000mg、さらに好ましくは10～500mgになるよう使用される。1日の投与回数は特に制限されず、1回又は数回に分けて投与できる。

【0015】本発明の生薬には、更に副成分としてトチュウ、ニンジン、ロクジョウ、ジオウ、サンヤク、サンショウ、タケシャ、ブクリョウ、ボタンビ、ブシ、オンジ、ゴミシ、ケコシ、トシシ、ニクジュヨウ等の生薬を配合することもできる。これら副成分は、例えばトチュウ、ニンジンおよびロクジョウの組み合わせ、ジオウ、サンヤク、サンショウ、タケシャ、ブクリョウ、ボタンビおよびブシの組み合わせのよう組合して、本発明の生薬に配合するのが好ましい。この場合の本発明の生薬に対する副成分の配合比率は、1：1～2.0（乾燥エキス換算重量比）、好ましくは1：1～1.0、更に好ましくは1：1～5である。

【0016】本発明の医薬組成物は、製剤の形態に応じて、例えば、混和、混練、造粒、打鋸、コーティング、滅菌処理、乳化などの慣用の方法で製造することができる。これらの製剤の製造に関しては、日本薬局方製剤総則の各項に準じて製造することができる。本発明の医薬組成物は通常経口的に投与されるが、この場合の医薬組成物の形態は特に制限されるものでなく、例えば、錠剤、顆粒剤、細粒剤、丸剤、カプセル剤、チュアブル剤などの固形製剤、場合によっては、シロップ剤、懸滴剤、乳剤などの液剤であってもよい。

【0017】製剤の調製には、製剤の種類に応じて慣用の担体成分が使用できる。例えば、固形製剤の調製には、慣用成分、例えば、デンプン、乳糖、ショ糖、マンニトール、コーンスターーチなどの糖類、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロース、軽質無水ケイ酸などの賦形剤；ポリビニルアルコール、ポリビニルビロリドン、ポリビニルエーテル、エチルセルロース、アラビアゴム、トラガント、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、クエン酸カルシウム、デキストリン、ベクターンなどの結合剤；ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、タルク、ポリエチレンジリコール、コロイドシリカ等の滑潤剤；デンプン、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロー

5
スナトリウムなどの崩壊剤、崩壊補助剤、保湿剤、界面活性剤などが使用できる。

【0018】液剤の調製には、慣用成分、例えば、注射用水、水、エチアルコール、エチレングリコールなどの溶剤、エタノール、ポリエチレンジリコール、プロピレンジリコール、D-マンニトール、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウムなどの溶解補助剤、ステアリルトリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、レシチン、モノステアリン酸グリセリンなどの界面活性剤；ポリビニルアルコール、ポリビニルビロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどの親水性高分子などの懸濁化剤；リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、クエン酸塩などの緩衝剤、ブドウ糖、アミノ酸などを使用することができる。

【0019】前記固形製剤や液剤には、必要に応じて、保存剤・可溶化剤・乳化剤・分散剤・増粘剤・可塑剤・吸着剤・香料・着色剤・難燃性臭味剤・甘味剤・防腐剤・抗酸化剤などを使用することができる。

20
【0020】本発明の医薬および医薬組成物は、古来より薬用に用いられてきた生薬成分を主成分として用いるため、毒性や副作用がなく、きわめて安全性の高いものであり、ヒトを含む脊椎動物に安全に投与できる。本発明の医薬はcGMP-PDEに起因する種々の機能障害や疾患症状の改善に有効であり、特に、種々の原因による勃起機能不全など機能障害の治療に有効である。

【0021】
【発明の実施の形態】以下、実施例を挙げて本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例により限定されるものではない。

30
【0022】
【実施例】生薬乾燥エキス

以下の実施例で用いる生薬は、刻み50gに約7倍量（すなわち350ml）の30容量%エタノール水溶液を添加し、30r.p.m.で攪拌しながら50℃で1.5時間抽出した。標準籠（呼び寸法75μm）を用いて滤過し、残渣を30容量%エタノール水溶液150mlで洗浄した。回収した滤液と洗浄液を合わせて、吸引滤過した。回収滤液を温度50℃以下で約50mlとなるまで減圧濃縮して、軟エキスを得た。この軟エキスを24時間凍結乾燥して、乾燥エキス末を得て、これを用いた。各々の用量はこのエキス末の重量を示す。

40
【0023】実施例1（製剤例・処方例）
以下、本発明の好ましい製剤例を記載するが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお、下記例において特に断らなければ、各成分の配合量は成人1日服用量を示し、常法に従い製剤化するものとする。

【0024】【製剤例1】
（处方） 成人1日服用量（3包中）

インヨウカク乾燥エキス末	500mg	* 合計	4,500mg
ジャショウシ乾燥エキス末	100mg	上記処方に従い、日本薬局方製剤総則、顆粒剤の項に準じて顆粒剤を製造した。	
カンゾウ乾燥エキス末	200mg	【0026】【製剤例3】	
ケイヒ乾燥エキス末	200mg	【素錠】	
ガイヨウ乾燥エキス末	300mg	(処方)	成人1日服用量(9錠中)
クコシ乾燥エキス末	300mg	インヨウカク乾燥エキス末	500mg
ニクジュヨウ乾燥エキス末	500mg	カイクジン乾燥エキス末	100mg
結晶セルロース	1,200mg	カイバ乾燥エキス末	100mg
デンブン	500mg	10 ソウヒヨウショウ乾燥エキス末	100mg
ヒドロキシプロビルセルロース	180mg	カンゾウ乾燥エキス末	200mg
乳糖	520mg	結晶セルロース	444mg
合計	4,500mg	デンブン	295mg
上記処方に従い、混合末を製し、日本薬局方製剤総則、顆粒剤の項に準じて顆粒剤を製造した。		ヒドロキシプロビルセルロース	103mg
【0025】【製剤例2】		ステアリン酸マグネシウム	20mg
(処方) 成人1日服用量(3包中)		乳糖	700mg
インヨウカク乾燥エキス末	500mg	小計	2,562mg
ホコツシ乾燥エキス末	500mg	【0027】【糖衣錠】	
オウゴン乾燥エキス末	200mg	素錠	2,544 mg
チクセツニンジン乾燥エキス末	200mg	20 タルク	1,141.1mg
シャカンゾウ乾燥エキス末	200mg	アラビアゴム	75.3mg
サヨウ乾燥エキス末	200mg	酸化チタン	46.3mg
トシシ乾燥エキス末	150mg	白糖	1,104.3mg
オシジ乾燥エキス末	150mg	合計	4,911mg
結晶セルロース	900mg	上記処方に従い、日本薬局方製剤総則、錠剤の項に準じて素錠および糖衣錠を製造した。	
デンブン	600mg	【0028】	
ヒドロキシプロビルセルロース	180mg		
乳糖	720mg		
[製剤例4]			
(処方)		成人1日服用量(60ml中)	
トチュウ乾燥エキス末	60mg		
ニンジン乾燥エキス末	100mg		
ロクジョウ乾燥エキス末	100mg		
インヨウカク乾燥エキス末	100mg		
ホコツシ乾燥エキス末	200mg		
ケイヒ乾燥エキス末	100mg		
精製白糖	3,000mg		
パラオキシ安息香酸ブチル	7.5 mg		
フレーバー	0.06ml		
水酸化ナトリウム	適量		
精製水(加えて全量)		60ml	
上記処方に従い、日本薬局方製剤総則、液剤の項に準じて液剤を製造した。滤過した後、滅菌してガラスピンに充填した。		(アマシャム社)などに準じた以下の方法に従って創定した。	
【0029】試験例		【0030】(1)ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVをコードする遺伝子のクローニング	
本発明の生薬のホスホジエステラーゼに対する阻害活性を、公知の方法(Thompson, W. J.ら、Biochemistry 10, 311(1971), J. D. Johnsonら、Anal. Chem. 16, 291(1987), R. J. Schillingら、Anal. Chem. 21, 154(1994)、Phosphodiesterase [³ H]cGMP SPA enzyme assay kit 50		cDNAのクローニングは、ジーントラッパー・ポジティブ選択システム(ギブコピーアールエル社)を用いて行った。選択した大腸菌を培養後、DNAを抽出し、Thermo Sequenase Core Sequencing Kit(アマシャム社)を用いて反応を行ない、SQ-3000 DNAシーケンサー(日立社)に	

より、cDNA断片の塩基配列を決定した。取得したクローリンは、配列番号：2で表される2499個の塩基配列を含有する3036個の塩基配列を有していた。このcDNA断片には、配列番号：1で表される833個のアミノ酸からなる新規ホスホジエステラーゼVがコードされていた。また、公知のウシ由来ホスホジエステラーゼV (Linda H. McAllisterら, J. Biol. Chem. 268 (30), 22869 (1993)、NCBI GenBank Accession No. L16545)とのアミノ酸レベルでの相同意性は92%であった。本発明のヒト肺由来ホスホジエステラーゼVをコードするプラスミドpPDE50の大腸菌 (Escherichia coli) DH10Bに導入して、形質転換体：大腸菌 (Escherichia coli) DH10B/pPDE50を得た。

【0031】(2) 大腸菌発現ベクターの構築

上記(1)で得られたヒト肺由来ホスホジエステラーゼVをコードするcDNAをEcoRIとXbaIで切断し、同様に処理したpGEX4T-2 (ファルマシア社) とライゲーションした。ライゲーション液を用いて大腸菌BL21 (フナコシ社) を形質転換し、本発明のヒト肺由来ホスホジエステラーゼVを発現する大腸菌 (Escherichia coli) BL21/pPDE51を取得した。

この形質転換体：大腸菌 (Escherichia coli) BL21/pPDE51は、平成10年7月13日から通商産業省工業技術院生命工学工業研究所 (NIBI) に寄託番号FERB-BP-6417として、平成10年6月18日から財団法人・醸酵研究所 (IFO) に寄託番号IFO 16185として寄託されている。

【0032】(3) 組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVの大腸菌での発現と精製

上記(2)で得られた大腸菌 (Escherichia coli) BL21/pPDE51を用いて、本発明の組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVを取得した。大腸菌での発現および精製はGST Gene Fusion System (ファルマシア社) 添付のプロトコールに準じて行った。その結果、目的の約100kDaの組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVがILの大

腸培養液から、12.5mg取得できた。

【0033】(4) ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVのホスホジエステラーゼ活性の検出
ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVのホスホジエステラーゼ活性の検出は、Phosphodiesterase [γ-32P] cGMP SPA enzyme assay kit (アマシャム社) を用いて行った。その結果、上記(2)で得た酵素溶液にホスホジエステラーゼ活性が認められた。また、pGEX 4 T-2をBL21にこれに形質転換したものをコントロールとして用いたが、これはホスホジエステラーゼ活性は認められなかった。

【0034】(5) 阻害剤探索系の設定

9穴プレート (OPTIプレート、パッカード社) に緩衝液 (0.5M Tris-HCl (pH7.5)、8 mM MgCl₂、17 mM EGTA) 10 μl、上記(3)で得られた組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼV (0.025ng/ml) 10 μl、超純水65μl、阻害剤サンプル5μl、[γ-32P] cGMP 10 μlを添加し、30°Cにて30分間反応した。反応終了後、SPA bead s溶液 (18mg/ml Yttrium silicate beads, 18mM ZnSO₄) 50 μlを添加し、約20分間、室温で放置した後、シンチレーションカウンター (Topcount、パッカード社) を用いて測定した。無添加の場合の放射活性 (1780cpm) に対して、組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVを添加した場合は、10367cpmの放射活性を示した。この反応に各種濃度のホスホジエステラーゼVの阻害剤であるシルデナフィル (Drugs of Future22(2), 1997) を添加することによりホスホジエステラーゼ活性は阻害され、シルデナフィルは約2nMでこの酵素反応を50%阻害した。このことから、本アッセイ系を用いて、ホスホジエステラーゼ阻害剤の探索が可能であることを確認した。

【0035】(6) 阻害剤探索の実施

上記(5)で設定した方法を用いて、本発明の生薑の組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼ阻害活性を測定した。その結果を表1に示す。

【表1】

生薬名	健常率(%)		
	5mg/mL	0.5mg/mL	0.05mg/mL
インヨウカク	102.9	107.5	99.2
エゾウコギ	109.6	100.4	64.1
オウゴン	113.1	111.2	98.7
オウバク	111.5	102.9	90.0
カククジン	111.6	103.7	53.0
カイバ	109.8	96.0	61.8
ガラナ	114.9	109.1	66.8
カンゾウ	108.9	107.3	89.1
コトウニン	113.1	107.1	90.4
サヨウ	109.7	105.0	57.6
サンシン	110.9	94.8	52.6
シーカンソウ	104.9	106.6	68.7
ジバクショウ	114.9	110.0	98.3
ジンティイ	114.9	105.9	75.0
ソウエイクヨウ	107.7	101.3	59.8
チクセニンジン	111.7	108.4	66.2
チモ	108.7	98.2	55.7
トドックツ	110.6	99.3	64.6
トユウヤク	113.1	97.7	63.0
フクボンシ	112.7	109.6	92.6
ホツツジ	114.9	107.8	92.2
ヤクチニン	112.3	109.0	72.2
マオウ	95.4	89.5	25.0
サイシン	88.1	55.8	12.8
カシショウキョウ	99.5	83.8	24.1
ソロウ	94.5	78.9	26.5
ケイヒ	104.9	106.4	51.9
ガイコウ	103.7	95.4	59.1
ワコウボク	101.9	76.6	36.0
カラウボク	100.8	87.8	29.2
チコウ	94.7	58.4	18.3
チクコ	91.8	93.0	28.7
コウブシ	104.2	90.2	49.2
ゴシュユ	100.6	92.1	56.1
オウレン	106.2	97.6	75.9
キヅツ	101.5	65.2	23.1

【0036】

【発明の効果】本発明の生薬は、優れたcGMP-PDE阻害活性を有しており、cGMP-PDEに起因する循環器系疾患（狭心症、高血圧、うっ血性心不全、肺高血圧症、アテローム性動脈硬化症、血管間存性低下症、血管狭窄症、末梢血管疾患、脳卒中など）、閉塞性肺疾患（慢性喘息、気管支炎など）、アレルギー性疾患（アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、荨麻疹など）、消化管の運動＊40

＊110) Takeda Chemical Industries, LTD.

＊120) cGMP-PDE inhibitor and medicine for treatment of sexual dysfunction

n

＊130) A99041

＊160) 2

＊210) 1

＊211) 833

＊212) PRT

＊213) Human

＊400) 1

*性に特徴づけられる疾患（過敏性腸症候群など）、性的機能障害（勃起機能不全、雌性機能不全など）、糸球体疾患、尿細管間質性疾患、腎不全、糖尿病合併症、線内障、早産または月経困難症など種々の疾患機能不全の予防・治療剤として使用することが出来る。

【0037】

【配列表】

13

14

Met Leu Pro Phe Gly Asp Lys Thr Arg Glu Met Val Asn Ala Trp Phe
 1 5 10 15
 Ala Glu Arg Val His Thr Ile Pro Val Cys Lys Glu Gly Ile Arg Gly
 20 25 30
 His Thr Glu Ser Cys Ser Cys Pro Leu Cln Cln Ser Pro Arg Ala Asp
 35 40 45
 Asn Ser Val Pro Gly Thr Pro Thr Arg Lys Ile Ser Ala Ser Glu Phe
 50 55 60
 Asp Arg Pro Leu Arg Pro Ile Val Val Lys Asp Ser Glu Gly Thr Val
 65 70 75 80
 Ser Phe Leu Ser Asp Ser Glu Lys Lys Glu Cln Met Pro Leu Thr Pro
 85 90 95
 Pro Arg Phe Asp His Asp Glu Gly Asp Cln Cys Ser Arg Leu Leu Glu
 100 105 110
 Leu Val Lys Asp Ile Ser Ser His Leu Asp Val Thr Ala Leu Cys His
 115 120 125
 Lys Ile Phe Leu His Ile His Gly Leu Ile Ser Ala Asp Arg Tyr Ser
 130 135 140
 Leu Phe Leu Val Cys Glu Asp Ser Ser Asn Asp Lys Phe Leu Ile Ser
 145 150 155 160
 Arg Leu Phe Asp Val Ala Glu Gly Ser Thr Leu Glu Glu Val Ser Asn
 165 170 175
 Asn Cys Ile Arg Leu Glu Trp Asn Lys Gly Ile Val Gly His Val Ala
 180 185 190
 Ala Leu Cln Pro Leu Asn Ile Lys Asp Ala Tyr Glu Asp Pro Arg
 195 200 205
 Phe Asn Ala Glu Val Asp Cln Ile Thr Gly Tyr Lys Thr Cln Ser Ile
 210 215 220
 Leu Cys Met Pro Ile Lys Asn His Arg Glu Cln Val Val Cln Val Ala
 225 230 235 240
 Cln Ala Ile Asn Lys Ser Gly Asn Cln Gly Thr Phe Thr Cln Lys
 245 250 255
 Asp Glu Lys Asp Phe Ala Ala Tyr Leu Ala Phe Cys Gly Ile Val Leu
 260 265 270
 His Asn Ala Cln Leu Tyr Cln Thr Ser Leu Leu Cln Asn Lys Arg Asn
 275 280 285
 Cln Val Leu Leu Asp Leu Ala Ser Leu Ile Phe Glu Cln Cln Ser
 290 295 300
 Leu Glu Val Ile Leu Lys Lys Ile Ala Ala Thr Ile Ile Ser Phe Met
 305 310 315 320
 Cln Val Cln Lys Cys Thr Ile Phe Ile Val Asp Glu Asp Cys Ser Asp
 325 330 335
 Ser Phe Ser Ser Val Phe His Met Cln Cys Glu Cln Leu Cln Lys Ser
 340 345 350
 Ser Asp Thr Leu Thr Arg Glu His Asp Ala Asn Lys Ile Asn Tyr Met
 355 360 365
 Tyr Ala Cln Tyr Val Lys Asn Thr Met Glu Pro Leu Asn Ile Pro Asp
 370 375 380
 Val Ser Lys Asp Lys Arg Phe Pro Trp Thr Cln Asn Thr Cln Asn
 385 390 395 400

15

16

Val Asn Gin Gin Cys Ile Arg Ser Leu Leu Cys Thr Pro Ile Lys Asn
 405 410 415
 Gly Lys Lys Asn Lys Val Ile Gly Val Cys Gin Leu Val Asn Lys Met
 420 425 430
 Glu Glu Asn Thr Gly Lys Val Lys Pro Phe Asn Arg Asn Asp Glu Gin
 435 440 445
 Phe Leu Glu Ala Phe Val Ile Phe Cys Gly Leu Gly Ile Gin Asn Thr
 450 455 460
 Gin Met Tyr Glu Ala Val Glu Arg Ala Met Ala Lys Gin Met Val Thr
 465 470 475 480
 Leu Glu Val Leu Ser Tyr His Ala Ser Ala Ala Glu Glu Glu Thr Arg
 485 490 495
 Glu Leu Gin Ser Leu Ala Ala Val Val Pro Ser Ala Gin Thr Leu
 500 505 510
 Lys Ile Thr Asp Phe Ser Phe Asp Phe Glu Leu Ser Asp Leu Glu
 515 520 525
 Thr Ala Leu Cys Thr Ile Arg Met Phe Thr Asp Leu Asn Leu Val Gin
 530 535 540
 Asn Phe Gin Met Lys His Glu Val Leu Cys Arg Trp Ile Leu Ser Val
 545 550 555 560
 Lys Lys Asn Tyr Arg Lys Asn Val Ala Tyr His Asn Trp Arg His Ala
 565 570 575
 Phe Asn Thr Ala Gin Cys Met Phe Ala Ala Leu Lys Ala Gly Lys Ile
 580 585 590
 Gin Asn Lys Leu Thr Asp Leu Glu Ile Leu Ala Leu Leu Ile Ala Ala
 595 600 605
 Leu Ser His Asp Leu Asp His Arg Gly Val Asn Asn Ser Tyr Ile Gin
 610 615 620
 Arg Ser Glu His Pro Leu Ala Gin Leu Tyr Cys His Ser Ile Met Glu
 625 630 635 640
 His His His Phe Asp Glu Cys Leu Met Ile Leu Asn Ser Pro Gly Asn
 645 650 655
 Gin Ile Leu Ser Gly Leu Ser Ile Glu Glu Tyr Lys Thr Thr Leu Lys
 660 665 670
 Ile Ile Lys Gin Ala Ile Leu Ala Thr Asp Leu Ala Leu Tyr Ile Lys
 675 680 685
 Arg Arg Gly Glu Phe Phe Glu Leu Ile Arg Lys Asn Gin Phe Asn Leu
 690 695 700
 Glu Asp Pro His Cln Lys Glu Leu Phe Leu Ala Met Leu Met Thr Ala
 705 710 715 720
 Cys Asp Leu Ser Ala Ile Thr Lys Pro Trp Pro Ile Cln Cln Arg Ile
 725 730 735
 Ala Glu Leu Val Ala Thr Glu Phe Phe Asp Gin Gly Asp Arg Glu Arg
 740 745 750
 Lys Glu Leu Asn Ile Glu Pro Thr Asp Leu Met Asn Arg Glu Lys Lys
 755 760 765
 Asn Lys Ile Pro Ser Met Gin Val Gly Phe Ile Asp Ala Ile Cys Leu
 770 775 780
 Cln Leu Tyr Glu Ala Leu Thr His Val Ser Glu Asp Cys Phe Pro Leu
 785 790 795 800

17

18

Leu Asp Gly Cys Arg Lys Asn Arg Gln Lys Trp Gln Ala Leu Ala Glu
 805 810 815
 Gin Gin Glu Lys Met Leu Ile Asn Gly Glu Ser Gly Gin Ala Lys Arg
 820 825 830

Asn

[0038]

<210> 2
 <211> 2499
 <212> DNA
 <213> Human
 <400> 2

ATGTTGCCCT TTGGAGACAA AACAAAGAAA ATGGTCAATG CATGGTTGC TGAGAGAGTT 60
 CACACCATCC CTGCTGCAA GGAAAGGTAC AGAGGGCACA CGGAATCTTG CTCTTGTC 120
 TTGCGACGAGA GTCCCTGTC AGATAACAGT GTCCCTGGAA CACCAACCG GAAATCTCT 180
 GCCCTCTGAAT TTGACCGCC TCTTAGACCC ATITGTGCA AGGATTCCTGA GGGAACTGTG 240
 AGCTTCTCTCT GTGACTCAAG AAAGAAGGAA CAGATGCCCT TAACCCCTCC AAGGTTTGT 300
 CATGATGAAG GGGACAGTG CTCAAGACTC TTGGAAATTAG TGAGGGATAT TTCTAGTCAT 360
 TTGGATGTCAG CACGGCTTATG TCACAAATTG TCTCTGCA TCCATGGACT GATATCTCT 420
 GACCGCTTATG CCTCTGTCCT GTGCTGTAAG GACAGCTCA ATGACAAGTT TCTTATCAGC 480
 CGCCCTCTTGT ATGCTCTGCA AGCTTCAAGAC CTGGAAACAGA TTTCACAAATAA CTGTATCCCC 540
 TTAGATGCA ACAAAAGCAT TGTGGACAT GTGGCAGGCC TTGGTGACCC CTGAACATC 600
 AAAGATGAT ATGAGGATCC TCGCTTCAATG CGAAAGCTT ACCAAATTCAG ACGGCTACAG 660
 ACACAAAGCA TCTCTTGTAT CCACAAATTAG AACATAGGG AGAGGGTTG TTGGTGAGCC 720
 CAGGCCATAC ACAAAAGAACAT AGGAAACAGGT GGGCACATTG CTGAAAAGGA TGAAAAGGAC 780
 TTTCCTGCTT ATTGGCATTG TTGCTGTTAT GTCTCTGATA ATGCTGACTG CTATGAGACT 840
 TCACTCTGG AGAACAAAGG AAATCAGGTG CTGGCTGACCT TTGCTGTTGTTT AATTTCGAA 900
 GAACACAAAT CATTAGAACT AATTTCGAA AAAATACCTG CCACCTATTAT CTCTTCTGATC 960
 CAAGTGCAGA ATTCACCATC TTCTCATAGT GATGAAGATT GCTCGGATTC TTTCCTGATG 1020
 GTCTTCTACA TTGGAGTTGCA GGAAATTAGA AAATCATCTG ATACATTAAC AAGGGACAT 1080
 GATGCAAAACA AAATCAATTA CATGTATGCT CAGTATCTCA AAAATACATG GGACCACTT 1140
 AATATCCAG ATGTCGAAAGG CGATAAAAGA TTTCCTGGAA CAACTGAAA TACAGGAAT 1200
 CTAAACCCACG ACTTCATTCAG AACTTTGCTT TGTCACACCA TAAAAAAATGG AAAAGAAAT 1260
 AAAGTTATG CGGTGTCCTA ACTGTTAAAT AACATGCGE AGAAATCTGG CAAGCTTAAAG 1320
 CCTTTCACCC GAAATGCGA ACAGTTCTG GAACCTTTG TCATCTTGTG TTGGCTTGGGG 1380
 ATCCAGAACCA CGCAGATGTC TGAGCAACTG GAGAGAGGCC TGCCCAAGCA AATGGTCACA 1440
 TTGGAGGTTG TTGCTGATCA TGCTTCAGCA CGAGAGGAAG AAAACAAGAGA CCTACATGGC 1500
 TTACCCGGCTG CTGCTGTCCTC ATCTGGCCAG ACCCTTAAAGA TTACTGACTT TACCTTCTGAGT 1560
 GACTTCTGACC TGCTGTGATCT CGAACACAGCA CTGTCACAA TTGGATGTT TACTGACCTC 1620
 AACCTTCTGCG AGAACTTCGA GATCAACAT GAGGTTCTT GCGATGEGAT TTAACTGTT 1680
 AACAAAGAATT ATCCGAAGAA TTGTCCTATA CATAATTGG ACGATCTCTT TAATACAGCT 1740
 CACTGCATGT TTGCTGCTCT AAAACAGGCC AAAATTCAGA ACAAGCTGAC TGACCTGGAG 1800
 ATACTTGGAT CTGCTGATTC TGCTCAAGC CACGGATTGG ATCACCCCTGG TCTCAATAAC 1860
 TCTTACATAC ACCCAACAGTG ACATCCACCTG GCGCAGCTT ACTCCCATTC AACATGGAA 1920
 CACCATCATT TTGAGCAACTG CTGCTGATGTT CTTAAATCTC CACGGCAATCA GATTTCTGACT 1980
 GGCCCTCTCCA TTGAGAATA TAAGACCAACCC TTGAAATAA TCAACCAACG TATTTGACT 2040
 ACAGACCTAG CACTGTCATAT TAAGACCCGA CGGAAATTGTT TTGAACTTAT AACGAAAAAAAT 2100
 CAATTCATTT TTGGAGAGATCC TGCAAAACG CACTTCTTGTG TTGCAATGCT GTGACACCT 2160
 TTGCTGATCTT CTGCTGATTC AAAACCCCTGG CACTTCAAC AACGGATAGC AGAACTGTTA 2220
 GCAACTGAAT TTGTTGATCA AGGAGACAGA GAGAGAAAAG AACTCAACAT AACAAACACT 2280
 GATCTAATGA ACAGGGACAA GAAAACAAA ATCCCAACTA TCCAAAGTTG TTGCTACAT 2340

GGCATCTGT TGCAACTGTA TGAGGCCCTG ACCCACGTGT CAGAGGACTG TTTCCTTTC 2400
 CTAGATGCT GCAGAAAGA CAGCCAGAAA TGCAGGGCCC TTCCACAACA GCAGGAGAAC 2460
 ATGCTGATTA ATGGGGAAAG CGGCCAGGCC AACGGGAAC 2499

【図面の簡単な説明】

【図1】試験例で用いたヒト肺由来ホスホジエステラーゼVのアミノ酸配列を示す。

【図2】試験例で用いたヒト肺由来ホスホジエステラーゼVのアミノ酸配列を示す。図1のつづきである。*

* 【図3】試験例で用いたヒト肺由来ホスホジエステラーゼVをコードするDNAを含むDNAの配列を示す。

【図4】試験例で用いたヒト肺由来ホスホジエステラーゼVをコードするDNAを含むDNAの配列を示す。図3のつづきである。

【図1】

Met Leu Pro Phe Gly Asn Lys Thr Arg Glu Val Asn Ala Ile Thr The Glu	18 And Thr Glu Asn Val Asn Gin Gin Cys Ile Arg Ser Leu Leu Cys Thr Pro Ile 414
Arg Val His Thr Ile Pro Val Cys Lys Glu Gly Ile Arg Gly Glu Thr Glu Ser	36 Lys Asn Cya Cya Lys Lys Asn Lys Val Ile Glu Val Cys Gin Leu Val Asn Lys Met 432
Cys Ser Cys Pro Leu Glu Cys Ser Pro Arg Asn Asp Ser Val Pro Glu Thr	54 Glu Glu Asn Thr Glu Lys Val Lys Pro Phe Asn Arg Asn Asp Glu Glu The Leu 450
Pro The Arg Ile Ser Ala Ser Glu Phe Arg Pro Leu Arg Pro Ile Val	72 Glu Ala The Val Ile Phe Cys Glu Leu Glu Ile Glu Asn Thr Glu Met Tyr Glu 468
Val Lys Asp Ser Glu Gly Thr Val Ser Phe Leu Ser Asp Ser Glu Lys Glu	90 Ala Val Phe Arg Ala Met Ala Lys Cya Met Val The Leu Glu Val Leu Ser Tyr 486
Gly Met Pro Leu The Pro Pro Arg Phe Asp Ile Asp Glu Gly Asp Glu Cys Ser	108 His Ala Ser Ale Ala Glu Glu Cys The Arg Glu Leu Glu Ser Leu Ala Ala Ala 504
Arg Leu Leu Glu Ile Val Lys Asp Ile Ser His Leu Asp Val The Leu Leu	126 Val Val Pro Ser Asn Glu Thr Leu Lys Ile Thr Asp The Phe Ser Phe Asp Phe 522
Asp Leu Leu Ile His Glu Leu Ile His Cys Asp Arg Tyr Ser	144 Glu Leu Ser Asp Leu Glu Thr Aile Leu Cys The Ile Arg Met Phe Thr Asp Leu 540
Leu Phe Leu Val Cys Glu Asp Ser Ser Asn Asp Lys Phe Leu Ile Ser Arg Leu	162 Asn Leu Val Glu Asn Phe Glu Met Lys His Glu Val Leu Cys Arg Trp Ile Leu 558
The Asp Val Ala Glu Gly Ser Ile Leu Glu Glu Val Ser Asn Asn Cys Ile Arg	180 Ser Val Lys Lys Asn Tyr Arg Lys Asn Val Ala Tyr His Asn Trp Arg Asp Leu 576
Leu Glu Trp Asn Lys Gly Ile Val Gly Ila Val Ala Ala Leu Gly Glu Pro Leu	198 The Asp Ala Glu Cys Met The Ala Leu Lys Ala Glu Ile Glu Ile Glu Asn 594
Asp Ile Lys Asp Ala Tyr Glu Asp Pro Arg Phe Asn Ala Glu Val Asp Glu Ser	216 Lys Leu Thr Asp Leu Glu Ile Leu Ala Leu Leu Ile Ile Ala Leu Ser His Asp 612
The Glu Tyr Lys Thr Glu Ser Ile Leu Cys Met Phe Ile Lys Asp His Arg Glu	234 Leu Asp His Arg Glu Val Asn Asn Ser Tyr Ile Glu Glu Ser Glu His Pro Leu 630
Glu Val Val Gly Val Ala Glu Ala Ile Asn Lys Ser Cys Asp Gly Glu Thr	252 Ala Glu Leu Tyr Cys His Ser Ile Met Glu His His Phe Asp Glu Cys Leu 648
The The Glu Lys Asp Glu Asp Phe Ala Ala Tyr Leu Ala Phe Cys Gly Ile	270 Met Ile Leu Asu Ser Phe Glu Asn Glu Phe Leu Ser Glu Lex Ser Ile Glu Glu 666
Val Leu Asn Ala Glu Leu Tyr Glu The Ser Leu Leu Glu Asp Lys Asn Asn	288 Tyr Lys The Thr Leu Lys Ile Ile Lys Glu Ala Ile Leu Ala Thr Asp Leu Ala 684
Gly Val Leu Leu Asp Leu Ala Ser Leu Ile Phe Glu Glu Glu Ser Leu Glu	306 Leu Tyr Ile Lys Arg Asp Glu Phe Phe Glu Leu Ile Arg Lys Asn Phe 702
Val Ile Leu Lys Ile Ala Ala Tyr Ile Ser Phe Met Glu Val Glu Lys	324 Asn Leu Cys Asp Pro His Glu Lys Leu Phe Leu Ala Met Leu Met Thr Ala 720
Cys Thr Ile Phe Ile Val Asp Glu Asp Cys Ser Asp Ser The Ser Ser Val Phe	342 Cys Asp Leu Ser Ala Ile Tha Lys Pro Trp Pro Ile Glu Glu Arg Ile Ala Glu 738
His Met Glu Cys Glu Leu Glu Lys Ser Ser Asp Thr Leu Thr Arg Glu His	360 Leu Val Ala Thr Glu Phe Phe Asp Glu Asp Arg Glu Arg Glu Leu Asn 756
Asp Ala Asn Lys Ile Asn Tyr Met Tyr Ala Glu Tyr Val Lys Asn The Met Glu	378 Ile Glu Pro Thr Asp Lou Met Asn Arg Glu Lys Lys Asu Lys Ile Pro Ser Met 774
Pro Leu Asn Ile Pro Asp Val Ser Lys Asp Arg Phe Pro Trp Thr Thr Glu	396 Glu Val Cys Phe Ile Asp Ala Ile Cys Leu Glu Leu Tyr Glu Ala Leu Thr His 792
Yal Ser Gin Asp Cys Phe Pro Leu Leu Asp Glu Cys Arg Lys Asn Arg Glu Lys	810
Trp Glu Ala Leu Ala Glu Glu Glu Glu Iys Met Leu Ile Asn Cya Glu Ser Cys	828
Glu Ala Lys Arg Asn	833

【図2】

(图3)

【四】

54	GAC GAG ANT ACT UGC AAG GTT AGC CCT TTT AAC GCA ANT GAG GAA GAA CAG TTT CTG	1950
108	GAC CCT TTG TCC ACT ATT TTG CGG TCC DGG ATC AAC GAG KAT CAG TAT DAT TAA	1400
162	GCA GTG GAA GAC AGC AGC GAC CAA AGC GTC AGA GTC GAA GAG GTC TCC TGT GAT	1650
216	CAT GET TCA GKA GCA GNG GAC GCA AGA AGC CTA CAA GAG TCA TGT TCA GGG GCG TGT	1650
270	GEG GEG CCA TCT GGC CAA CAA CCT ATT ATT ACT GAC TGT ATT EGK ATG GAC TGT	1650
324	GAG GCG TCT GAT GTC GAA GCA CGA CTC TGA CAA ATG AAT ATT ACT GAC GAT CTC	1650
378	ATA CGT GEG GAC AMT TCA CAG AND AAC CAG TGG LTT LTY GCA HEA ATT GCA	1670
432	AGT GET AGG AND AMT TAT CGG AGN AND GAT TGG RGC TAT CAT ATT TGG AGA CAT GCC	1720
486	TTC ATT ACA ACT GCA TGC TAC ATT TGT GCT GCT CKA CKA AAA GGG AAA ATT CAC AMG	1720
540	AAA CAG CTC GAC CTC GAA CAA ATT CCA TGG CTC ATT GCT GCA CTA CCA AGC CAT	1850
594	TTC GAT CAC CCT GGT GVG ANY AAC TGT TCT TAC ATA CAG CAA AGT GAA CAT CCA CCT	1850
648	GCC CCC CTC TAC TCC TAT CAT ATA AGC AAC CAT EAT ATT TGC GAC CAT PCT CTC	1850
702	ATT ATG CTC ATT ACT CCA GCA AGC ATT CCT CTC AGC DGC CTC TGC ATT AAA GCA	1890
756	TAT AGC ACC AGC TTC AAA ATA ATT AAC GAG CAA GET ATT TTA GCT CKA GAA CTC GCA	2060
810	CTC TAT ATT AGC CCA GAA GAA TTT TGT GAA CTC ATA AGA AAA ANA ATT CTC	2100
864	ATA TGG GAA GAT CCT TCA KAA GAG GAG TGG TTT GCA GAA ATG CTC AGA AAC OCT	2100
918	TWT GAT CCT TCT GEA ATT ACA AAA CCC TGG CCT ATT CAA GAA CCT GAA AGA GCA	2140
972	CTT GAA GCA ACT GAA ATT TTS TGT GAT CAA GCA GAC AGA GAG AAA GAA CTC ANC	2200
1026	ATA GAA CCC ACT GAT CTA ATG AAC AGG AAC AAC AAA AMM ATT CCA CTC ATT AGC	2200
1080	CAT GGT TGG TAT GAT GAC ATT TGT CTC TGA TAT GAG AAC CTC CTC ATT AGC	2200
1134	TGG TCA GAC GAG TGT TCC CCT CTA GAT GGC TGC AGA AGC AAC AGC AAC AAA	2400
1188	TGG TAC GGC CCT GKA GAA GCA CAG CAG AAC AGG CTC ATT ATT AGT GGG DAA AGC GGC	2400
1242	GAC GUG CCG AAC	2400

フロントページの書き

F ターム(参考) 4C088 AB04 AB12 AB16 AB17 AB18
AB29 AB32 AB33 AB36 AB40
AB41 AB51 AB55 AB60 AB62
AB63 AB64 AB65 AB76 AB79
AB81 AB85 AB99 AC04 AC05
AC06 AC11 AC13 AD05 AD11
AD13 BA03 BA06 BA07 BA08
BA10 MA02 MA07 MA08 MAS2
NA14 ZA33 ZA34 ZA36 ZA40
ZA42 ZA45 ZA54 ZA59 ZA66
ZB81 ZB89 ZB13 ZC20